

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kematian akibat penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri merupakan masalah yang serius dalam dunia kesehatan. Beberapa tahun terakhir, industri farmakologi telah menghasilkan sejumlah antibiotik baru, tetapi resistensi bakteri terhadap obat terus meningkat (Nascimento *et al.*, 2000). Solusi yang jelas belum ditemukan karena resistensi antibiotik yang kompleks dan efek samping dari obat yang perlu dipertimbangkan. Situasi ini memberikan dorongan untuk mencari zat antimikroba baru dari berbagai sumber contohnya tanaman herbal. Senyawa antimikroba yang berasal dari tanaman mampu menghambat pertumbuhan dan proliferasi mikroorganisme patogen (Souza *et al.*, 2000). Tanaman herbal dan rempah-rempah sebagai dasar obat tradisional di banyak Negara telah berlangsung sejak lama (Gendy *et al.*, 2015). Akhir-akhir ini, banyak penelitian mengenai skrining antimikroba dari ekstrak dan minyak atsiri dari tanaman sebagai agen antimikroba baru sebagai pilihan yang lebih ekonomis dan efektif (Niculae *et al.*, 2009; Vargas *et al.*, 2004). Oleh karena itu, minyak atsiri dapat menjadi pilihan alternatif untuk penanggulangan penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri.

Minyak atsiri dapat diperoleh dari seluruh bagian tanaman termasuk bunga, daun, batang, ranting, buah, benih, akar, kayu, atau kulit kayu, (Bakkali *et al.*, 2008; Franz & Novak., 2010). Tanaman jeruk purut (*Citrus Hystrix*) merupakan salah satu tanaman herbal yang dimanfaatkan sebagai sumber penghasil minyak atsiri. Secara umum minyak atsiri jeruk purut tersusun atas

senyawa monoterpen, seskuiterpen, dan turunan teroksigenasi seperti alkohol, aldehida, ester, eter, keton, fenol dan oksida (Cowan, 1999; Kotan *et al.*, 2007). Komponen utama penyusun minyak atsiri jeruk purut yaitu monoterpen seperti sitronelal, sabinen, linalool, β -pinen, limonene, dan lain-lain. Penelitian mengenai komponen utama minyak atsiri dari daun, kulit buah dan ranting jeruk purut telah banyak dilakukan. Khasanah (2015) melaporkan bahwa minyak atsiri dari daun jeruk purut dengan perlakuan pemeraman tersusun atas sitronelal 64,51%, β -sitronelol 10,71%, linalool 5,54%, dan *trans-caryophyllene* 5,31%. Sementara menurut Sutthanont (2010) dinyatakan bahwa komponen utama minyak kulit buah jeruk purut adalah β -pinen 22,54%, d-limonen 22,03% dan terpinene-4-ol 17,37%. Warsito (2013) melaporkan bahwa komponen minyak ranting jeruk purut seperti sitronelal 46,40%, linalool 13,11%, sitronelol 11,03%, dan sabinen 5,91%.

Telah banyak dilaporkan pula bahwa minyak jeruk purut memiliki berbagai aktivitas seperti larvasida dari nyamuk *Aedes aegypti* (Sutthanont *et al.*, 2010), antioksidan (Warsito *et al.*, 2013), dan antibakteri (Srisukh *et al.*, 2012). Bervariasinya aktivitas biologis dari minyak jeruk purut ini berkaitan erat dengan komponen monoterpenoid hidrokarbon (MH) dan monoterpenoid teroksigenasi (MO) yang menyusun minyak atsiri jeruk purut.

Komposisi penyusun minyak jeruk purut dan aktivitasnya antibakterinya dilaporkan oleh beberapa peneliti seperti Wungsintaweeikul (2010) melaporkan bahwa minyak jeruk purut dari daun dengan komposisi penyusun MO 3 kali lebih tinggi menunjukkan aktivitas antimikroba. Sementara Lan-phi (2015) melaporkan bahwa minyak jeruk purut dari kulit buah dengan komposisi utama penyusun MH lebih tinggi dari MO menunjukkan aktivitas antibakteri dan antioksidan yang

lebih tinggi. Bervariasinya komposisi MO dan MH dalam minyak atsiri akan mempengaruhi aktivitasnya sebagai antibakteri. Suatu minyak atsiri yang memiliki aktivitas antibakteri rendah dapat diolah menjadi minyak yang memiliki komposisi kimia yang bervariasi dengan mengolahnya menggunakan destilasi fraksinasi.

Penerapan teknik destilasi fraksinasi ini merupakan teknik pemisahan komponen berdasarkan perbedaan titik didih untuk senyawa-senyawa yang berdekatan dari komponen-komponen penyusunya. Dengan demikian menarik untuk dikaji pengolahan minyak jeruk purut dari ranting dengan destilasi fraksinasi untuk mengubah yang semula memiliki komposisi MO jauh lebih tinggi menjadi fraksi-fraksi yang komposisi kimianya dan aktivitas antibakterinya bervariasi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas dapat dirumuskan beberapa rumusan masalahnya sebagai berikut:

1. Apakah minyak atsiri jeruk purut yang berasal dari daun, ranting, kulit buah memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E.coli*.
2. Apakah fraksi-fraksi minyak atsiri jeruk purut memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E.coli*.
3. Bagaimana korelasi komposisi MH dan MO dari minyak atsiri jeruk purut dan fraksi-fraksi minyak atsiri jeruk purut terhadap aktivitas antibakteri *E.coli*.

1.3 Batasan Masalah

1. Sampel minyak atsiri jeruk purut yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari hasil destilasi air-uap.
2. Fraksi minyak atsiri jeruk purut yang digunakan dalam sampel ini diperoleh dari hasil destilasi fraksinasi menggunakan tipe PiloDist 104-VTU yang dilakukan di LIPI.
3. Jenis bakteri yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri yaitu *E.coli* yang diperoleh dari Lab. mikrobiologi fakultas FMIPA.
4. Aktifitas uji antibakteri dalam penelitian ini yaitu difusi sumuran untuk mengetahui zona hambat dan pertumbuhan bakteri

1.4 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas antibakteri minyak atsiri jeruk purut yang berasal dari daun, ranting, dan kulit buah terhadap bakteri *E.coli*.
2. Mengetahui aktivitas antibakteri fraksi-fraksi minyak atsiri jeruk purut terhadap bakteri *E.coli*.
3. Mengetahui korelasi komposisi MH dan MO dari komponen minyak atsiri jeruk purut dan fraksi-fraksinya terhadap aktivitas antibakteri *E.coli*.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Memberikan peluang pengembangan bagian minyak jeruk purut yang lain sebagai bahan pengendali pertumbuhan bakteri.
2. Meningkatkan nilai tambah minyak jeruk purut dalam bidang obat-obatan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Komponen Minyak Atsiri dan Minyak Jeruk Perut

Minyak atsiri adalah campuran senyawa kompleks dari senyawa volatil dengan aroma yang kuat diperoleh dari beberapa organ tanaman, termasuk tunas, bunga, daun, batang, ranting, biji, buah akar, kayu atau kulit kayu. Minyak atsiri pada tanaman biasanya disimpan pada sel pembuangan, rongga, sel epidermis atau sel kelenjar trikoma (Franz and Novak, 2010; Bakkali *et al.*, 2008). Diperkirakan sekitar 3000 minyak atsiri telah diketahui, dan 300 diantaranya telah diperdagangkan. Komponen minyak atsiri tersusun atas campuran senyawa kompleks, terutama monoterpen, seskuiterpen, dan turunan teroksigenasinya (alkohol, aldehida, ester, eter, keton, fenol dan oksida). Umumnya, komposisi minyak atsiri merupakan keseimbangan berbagai senyawa, meskipun dalam banyak spesies satu konstituen mungkin semua prevailover lainnya (Cowan, 1999).

Masing-masing komponen utama minyak atsiri dapat berasal dari tiga jalur biosintesis yaitu, jalur mevalonate mengarah pada seskuiterpen, sedangkan jalur utama metil-erithritol mengarah pada mono- dan diterpenes, dan jalur asam shikimat mengarah pada phenylpropenes. Namun, terdapat sejumlah senyawa tunggal yang tak terhitung dan sangat bervariasi dalam komposisi minyak atsiri. Banyak dari senyawa volatil yang memiliki fungsi ekologis yang beragam. Mereka dapat bertindak sebagai penyampaian pesan internal, sebagai zat pertahanan atau sebagai musuh alami terhadap herbivora, dan sebagai penarik

serangga penyerbuk (Harrewijn *et al.*, 2001). Minyak atsiri juga sering digunakan untuk aroma atau rasa, selain itu minyak atsiri memainkan peran penting sebagai agen penyedap dalam industri makanan dan sebagai wewangian untuk industri parfum (Bruneton, 1999).

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber penghasil minyak atsiri yaitu jeruk purut (*Citrus Hystrix*). *Citrus hystrix* DC, umumnya dikenal sebagai jeruk purut merupakan tanaman herbal didaerah tropis dari Family Rutaceae banyak dan banyak ditemukan di Asia Tenggara (Doreen *et al.*, 2011). Tanaman jeruk purut merupakan tanaman semak berduri dengan daun yang beraroma khas dan buah jeruk purut yang berwarna hijau gelap dengan permukaan bergelombang tidak teratur.



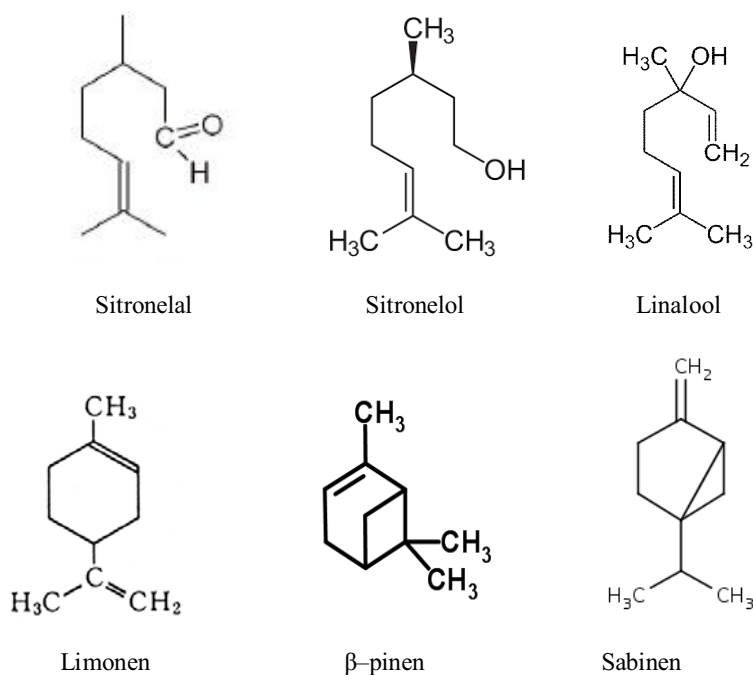
(Safaatul & Prima, 2010)

Gambar 2.1 Tanaman Jeruk purut

Jeruk purut kaya akan minyak atsiri pada beberapa bagian seperti daun, ranting, kulit buah dan jus buah (Akiyoshi *et al.*, 1990). Minyak atsiri jeruk purut dapat diperoleh dengan metode destilasi. Metode destilasi merupakan metode pemisahan komponen suatu campuran dari dua jenis cairan atau lebih berdasarkan tekanan uap dari masing-masing zat tersebut. Tekanan uap jenuh yang rendah

pada metode destilasi uap dapat menghasilkan kerusakan minyak lebih kecil, karena senyawa tersebut diuapkan sebelum mencapai titik didihnya, selain itu rendemen minyak lebih besar dengan kecepatan penguapan yang lebih lama (Guenthers, 1990).

Hasil destilasi minyak jeruk purut umumnya terdiri dari senyawa monoterpen hidrokarbon (MH) maupun monoterpen teroksigenasi (MO) seperti sitronelal, sabinen, linalool, β -pinen, limonene, dan lain-lain. Senyawa monoterpenoid sendiri terbentuk dari dua molekul isoprene. Monoterpenoid terdiri dari monoterpenoid hidrokarbon (MH) maupun monoterpen teroksigenasi (MO), monoterpenoid hidrokarbon merupakan monoterpenoid yang terdiri dari unsur hidrogen dan karbon, sedangkan teroksigenasi terdiri dari unsur karbon, hidrogen, dan oksigennya. Struktur senyawa monoterpenoid hidrokarbon dan teroksigenasinya dapat dilihat pada Gambar 2.2



(Hyltdgaard *et al*, 2012; Burt *et al*, 2004; Cowan *et al*, 1999)

Gambar 2.2 Struktur senyawa monoterpenoid hidrokarbon dan teroksigenasinya

Berbagai penelitian mengenai metode destilasi dan komponen minyak atsiri jeruk purut dilaporkan oleh Khasanah (2015) komponen minyak atsiri jeruk purut yang didestilasi dari daun memiliki komponen utama penyusunnya yaitu *Citronellal* (64,15%), *β -Citronelol* (10,71%), *Linalool* (5,54%), dan *Trans-Caryophyllene* (5,31%) yang didapat dari hasil destilasi daun jeruk purut dengan perlakuan pendahuluan pemeraman. Sedangkan Sutthanont (2010) melaporkan bahwa minyak atsiri jeruk purut dari kulit buah dengan destilasi uap memiliki komponen utama yaitu *β -pinene* (22.54%) dan *d-limonene* (22.03%) diikuti oleh *terpinene-4-ol* (17.37%). Sementara Warsito (2013) melaporkan minyak ranting jeruk purut yang diperoleh dengan destilasi uap-air bertekanan rendah memiliki komponen utama penyusun yaitu sitronelal (46,40%), linalool (13,11%), sitronelol (11,03%), dan sabinen (5,91%).

Komponen-komponen minyak atsiri jeruk purut yang bervariasi tersebut dapat dimurnikan dengan metode destilasi fraksinasi sehingga menghasilkan fraksi yang lebih murni. Distilasi bertingkat atau distilasi fraksinasi berguna untuk memisahkan komponen utama berdasarkan perbedaan titik didih yang berdekatan. Minyak atsiri umumnya tidak disuling pada tekanan atmosfer tetapi dalam keadaan vakum, karena pada tekanan atmosfer dan suhu tinggi dapat menyebabkan dekomposisi, dan resinifikasi, sehingga destilat mempunyai bau dan sifat fisika kimia yang berbeda dengan minyak murni (Guenthers, 1990).

2.2 Potensi Minyak Jeruk Purut sebagai Antibakteri

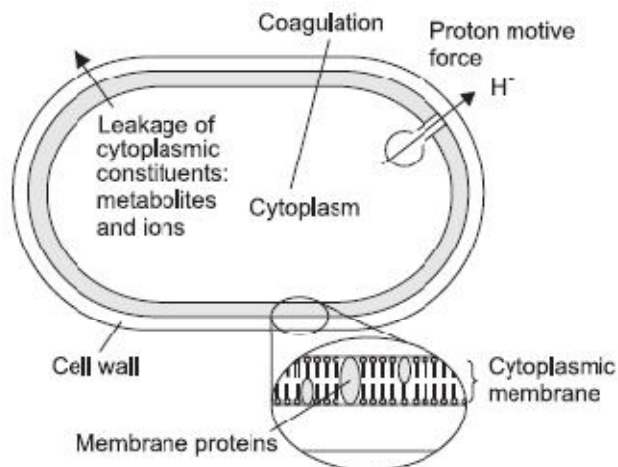
Minyak atsiri yang berasal dari rempah dan herbal memiliki kemampuan sebagai antimikroba alami yang paling menjanjikan karena tidak menyebabkan

resistensi terhadap mikroba karena perbedaan mekanisme tindakannya (Dobre *et al.*, 2011). Minyak atsiri yang memiliki potensi sebagai antimikroba yaitu minyak jeruk purut.

Minyak jeruk purut telah terbukti memiliki aktivitas antimikroba terhadap beberapa jenis mikroba seperti jamur, ragi, dan bakteri gram positif maupun gram negatif. Penelitian mengenai minyak jeruk mampu sebagai antibakteri terhadap berbagai jenis bakteri dengan daya hambat yang berbeda telah dilaporkan oleh (Srisukh *et al.*, 2012) bahwa minyak daun jeruk purut dan minyak kulit buah jeruk purut yang memiliki komponen utama penyusunnya seperti sitronelal, α -terpineol, terpinene-4-ol efektif mampu melawan bakteri-bakteri yang menginfeksi pernafasan dengan nilai KHM 0,06-68 mg/mL dan 0,03-17,40 mg/mL. Penelitian Chanthaphon (2008) menunjukkan bahwa komponen utama dari minyak kulit buah jeruk purut yang diekstrak dari etil asetat yaitu limonene (31,64%), sitronelal (25,96%), dan β -pinen (6,83%) mampu menghambat *Sac. cerevisiae var. sake* dan *B. cereus* dengan nilai KHM sebesar 0,28 mg/mL dan 0,56 mg/mL, serta menghambat *L. monocytogenes*, *A. fumigatus* TISTR 3180 dan *S. aureus* dengan nilai KHM yang sama 1,13 mg/mL. Bahkan ekstrak minyak kulit buah juga dapat membunuh *S. aureus*, *B. cereus* dengan nilai KBM (Konsentrasi Bunuh Minimal) yang sama baiknya 1,13 mg/mL, serta *L. monocytogenes*, *A. fumigatus* TISTR 3180 dengan nilai KBM yang sama 2,25 mg/mL.

Antibakteri didefinisikan sebagai bahan yang digunakan untuk menghambat perkembangan bakteri dan mempunyai toksisitas selektif, dimana bahan tersebut hanya melemahkan patogen tetapi tidak berpengaruh pada inangnya (Jawetz *et al.*, 2010: 355). Secara umum, variasi aktivitas antibakteri

mungkin mencerminkan perbedaan dalam struktur permukaan sel antara gram-negatif dan gram positif; gram-positif menjadi lebih rentan terhadap tindakan asam fenolik daripada bakteri gram-negatif (Cueva *et al.*, 2010). Mekanisme antibakteri yang terjadi tergantung pada karakteristik masing-masing komponen minyak atsiri. Salah satu karakter yang dimiliki oleh komponen minyak yaitu hidrofobisitasnya yang memungkinkan mereka untuk mempartisi lipid membran sel bakteri dan mitokondria, mengganggu struktur dan rendering minyak yang lebih permeabel (Knobloch *et al.*, 1986; Sikkema dkk., 1994). Kebocoran ion dan isi sel lainnya yang dapat terjadi (Oosterhaven *et al.*, 1995; Gustafson dkk., 1998; Helander *et al.*, 1998; Cox *et al.*, 2000; Lambert *et al.*, 2001; Skandamis dkk., 2001; Carson *et al.*, 2002; Ultee dkk., 2002). Meskipun sejumlah kebocoran dari bakteri sel dapat ditoleransi tanpa kehilangan kelangsungan hidupnya, isi sel yang banyak hilang atau keluarnya molekul dan ion penting akan menyebabkan kematian (Denyer dan Hugo, 1991a). Mekanisme antibakteri dapat digambarkan pada Gambar 2.3



Gambar 2.3 Mekanisme antibakteri (Burt *et al.*, 2004)

Mekanisme dari tindakan sel bakteri dari senyawa bioaktif tanaman seperti degradasi dinding sel (Nychas & Tassou, 1999), kerusakan membran sitoplasma dan membran protein (Lambert *et al.*, 2001), kebocoran isi sel, koagulasi sitoplasma, dan menipisnya motif proton secara paksa (Burt, 2004; Gyawali & Ibrahim, 2014).

Beberapa cara serangan suatu zat antibakteri yang menyebabkan kerusakan pada salah satu struktur atau komposisi suatu sel mikroba diantaranya:

1) Rusaknya dinding sel

Dinding sel yang merupakan penutup, pelindung bagian sel dan berpartisipasi di dalam proses-proses fisiologis tertentu dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya, penghambatan pada sintesis dinding sel (sintesis peptidoglikan) dengan menghalangi langkah enzimatik dalam sintesis peptidoglikan. Kerusakan pada dinding sel akan berakibat terjadinya perubahan-perubahan yang mengarah pada kematian sel (Jawetz dan Adelberg, 1995).

2) Rusaknya membran semipermeabel (membran sitoplasmik)

Membran semipermeabel merupakan membran yang berfungsi untuk mempertahankan integritas kandungan selular, membran ini juga secara selektif mengatur keluar masuknya zat antara sel dan lingkungan luar, serta tempat untuk bereaksinya suatu enzim. Jika integritas fungsi dari membran sitoplasma terganggu, maka makromolekul dan ion akan lolos dari sel, dan terjadilah kerusakan atau kematian sel (Jawetz dan Adelberg, 1995).

3) Berubahnya permeabilitas sel

Membran plasma merupakan struktur yang semipermeabel yang mengendalikan pengangkutan substansi metabolik kedalam dan keluar sel. Kerusakan membran

ini akan mencegah berlangsungnya sejumlah biosintesis yang perlu di dalam membran. Selain itu kerusakan membran sel memungkinkan ion organik yang penting, koenzim dan asam amino merembes keluar sel dan mengakibatkan sel akan mati.

4) Rusaknya sintesis asam nukleat dan protein

Kelangsungan hidup sel sangat tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel (Pelczar dan Chan, 1986). Bahan antimikroba yang dapat merusak (mendenaturasi) protein dan asam nukleat tidak dapat diperbaiki lagi.

5) Menghambat kerja enzim

Di dalam sel terdapat enzim dan protein yang membantu kelangsungan proses-proses metabolisme sel. Aktifitas kerja enzim dapat dihambat oleh zat-zat kimia melalui berbagai cara. Zat kimia dapat menginaktifkan, mempengaruhi pembentukan atau bahkan mendenaturasi (merusak) enzim (Pelczar dan Chan, 1986).

Pengukuran aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode *in vitro* untuk menentukan potensi suatu zat antibakteri dalam larutan, konsentrasi suatu zat antibakteri terhadap dinding sel dan jaringan, dan kepekaan suatu bakteri terhadap konsentrasi yang dikenakan. Penentuan kepekaan bakteri terhadap antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan dilusi (Choi *et al.*, 2006; Jenie, 2003). Metode difusi adalah suatu uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan suatu cakram kertas saring, atau cawan yang berlubang yang mengelilingi obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada pembenihan padat

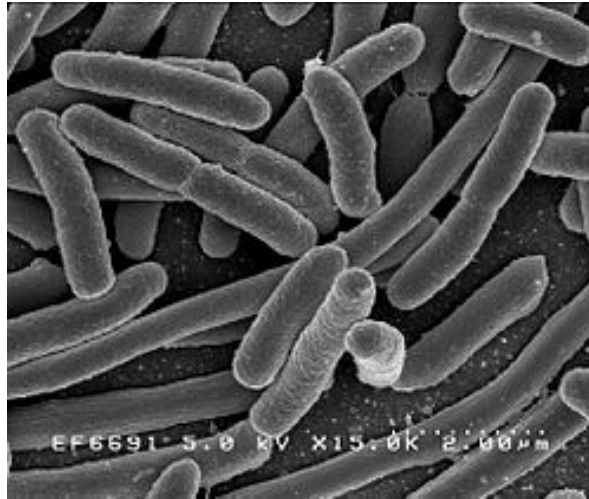
yang telah ditanami dengan biakan bakteri yang diperiksa setelah pengeraman. Daerah zona hambatan jernih yang mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diuji. Kriteria zona hambat menurut David & Stout (1971) ditunjukkan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kriteria besarnya zona hambat

Diameter zona hambat (mm)	Kriteria
< 5 mm	Lemah
6 - 10 mm	Kuat
>20 mm	Sangat kuat

Metode uji aktivitas antibakteri lainnya yaitu metode dilusi. Metode ini merupakan suatu uji aktivitas antibakteri dimana sejumlah zat antimikroba dimasukkan ke dalam medium bakteriologi padat atau cair, biasanya digunakan pengenceran dua kali lipat. Metode dilusi bermanfaat untuk mengetahui seberapa banyak jumlah zat antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri yang diuji. Semakin kecil konsentrasi yang digunakan untuk membunuh bakteri menandakan semakin efektif zat antibakteri tersebut.

Salah satu bakteri negatif yang sering menyebabkan suatu penyakit yaitu bakteri *Escherichia coli* (*E.coli*). *Escherichia coli* merupakan jenis bakteri yang menguntungkan pada usus manusia sebagai flora normal, namun sering juga ditemukan pada jaringan tubuh lain sebagai penyebab infeksi.

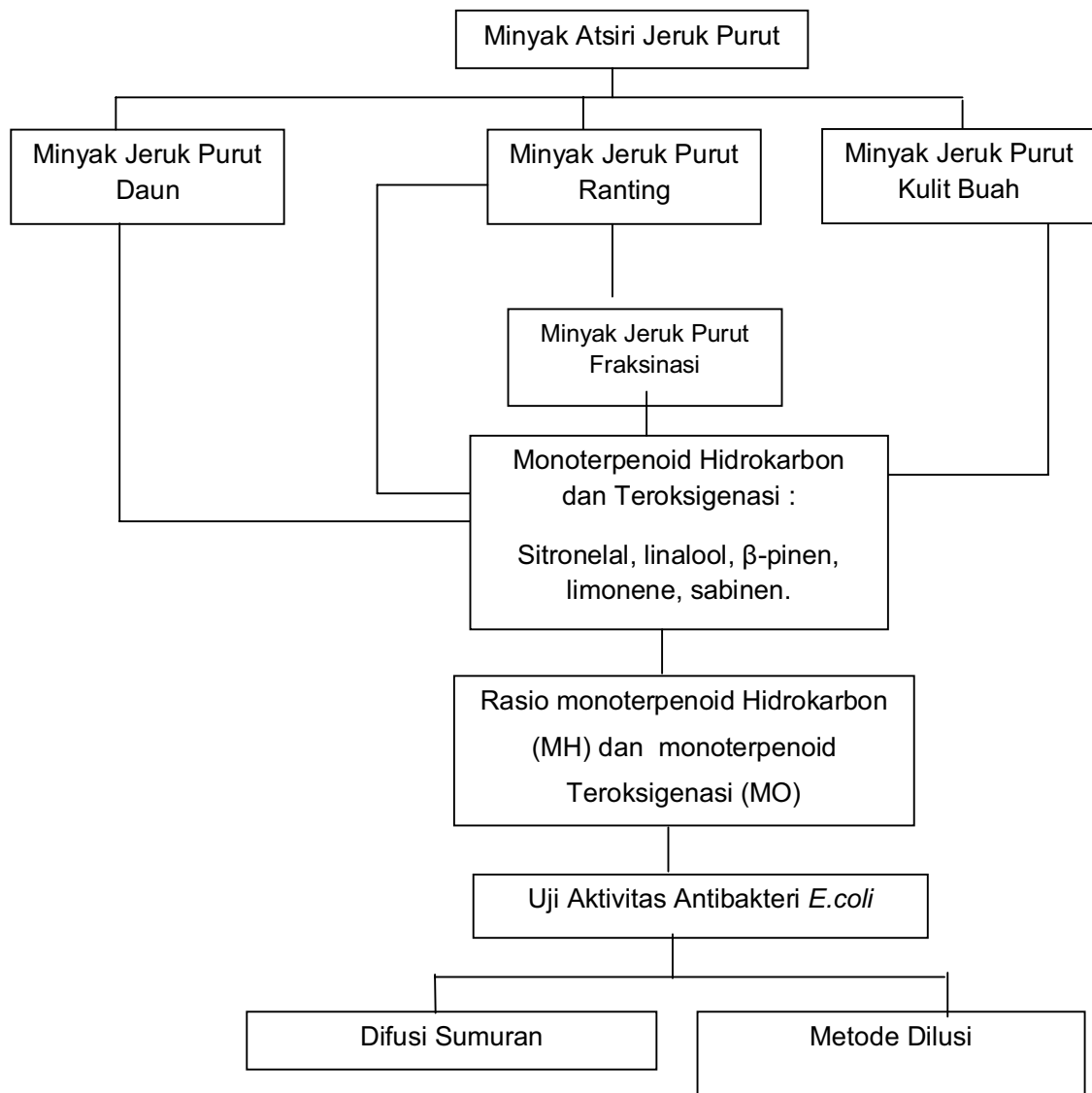


Gambar 2.4 Bakteri *E.coli* (Scince Daily, 2008)

Bakteri ini berbentuk batang pendek (kokobasil), termasuk jenis Gram negatif, berukuran $0,4-0,7 \mu\text{m} \times 1,4 \mu\text{m}$, diketahui beberapa strain memiliki kapsul (Karsinah *et al.*, 2010). *E. coli* diketahui merupakan penyebab utama infeksi usus yang menyebabkan diare terutama pada anak-anak yang banyak dikenal dengan sebutan travelers diarrhea. Selain diare, penyakit lain yang disebabkan oleh *E. coli* diantaranya adalah infeksi saluran kemih mulai dari sistitis hingga pielonefritis yang diketahui *E. coli* merupakan penyebab lebih dari 85% kasus. Ada juga infeksi luka yang disebabkan oleh *E. coli*, terutama pada luka abdomen (Karsinah *et al.*, 2010). Habitat *E.coli* secara alamiah hidup pada saluran gastrointestinal hewan berdarah panas dan manusia. Bakteri ini dapat menjadi patogen bila mencapai jaringan di luar saluran air kemih, saluran empedu, paru-paru atau otak yang menyebabkan peradangan pada tempat tersebut (Sjo"lund *et al.*, 2009).

BAB III
KERANGKA KONSEP

3.1. Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka konsep penelitian

3.2. Penjelasan Kerangka Konsep Penelitian

Minyak atsiri jeruk purut diperoleh dari jalur metabolit sekunder tanaman jeruk purut. Jalur metabolit sekunder menghasilkan berbagai macam jenis komponen bergantung pada masing-masing bagian, seperti daun, ranting, dan kulit buah. Komponen penyusun minyak jeruk mayoritas merupakan komponen monoterpenoid. Komponen monoterpenoid sendiri terdiri dari monoterpen hidrokarbon dan teroksigenasi. Komponen tersebut pada masing-masing minyak memiliki komposisi yang berbeda bergantung pada jalur metabolit sekunder dan metode pemisahannya. Komponen dengan komposisi yang bervariasi dapat menentukan aktivitas biologisnya.

Aktifitas biologis minyak jeruk purut telah diketahui seperti larvasida, antioksidan dan antibakteri. Aktivitas-aktivitas tersebut dapat dikarenakan komponen penyusun minyak yang merupakan monoterpenoid hidrokarbon (MH) dan teroksigenasinya (MO) yang bervariasi. Beberapa peneliti seperti Wungsintaweeikul (2010) melaporkan bahwa minyak jeruk purut dari daun dengan komposisi penyusun MO 3 kali lebih tinggi menunjukkan aktivitas antimikroba. Sementara Lan-phi (2015) melaporkan bahwa minyak jeruk purut dari kulit buah dengan komposisi utama penyusun MH lebih tinggi dari MO menunjukkan aktivitas antibakteri dan antioksidan yang lebih tinggi. Hal tersebut menunjukkan bahwa aktifitas biologis minyak yang salah satunya yaitu antibakteri dapat dikarenakan oleh komposisi monoterpen hidrokarbon dan teroksigenasinya yang bervariasi. Sementara aktifitas antibakteri yang rendah pada minyak dapat diolah menjadi minyak dengan komposisi kimia yang bervariasi. Komposisi yang

bervariasi pada minyak dapat diperoleh dengan destilasi fraksinasi. Destilasi fraksinasi merupakan pendekatan pemisahan komponen senyawa dengan perbedaan titik didih berdekatan. Aktivitas antibakteri pada minyak dapat diuji menggunakan metode difusi dan dilusi pada berbagai macam konsentrasi.

3.3.Hipotesis

1. Minyak atsiri jeruk purut dari daun, ranting, dan kulit buah memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E.coli*.
2. Fraksi minyak atsiri jeruk purut dari daun, ranting, dan kulit buah memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E.coli*.
3. Korelasi antara komposisi MH dan MO dari minyak atsiri jeruk purut dan fraksi minyak atsiri jeruk purut terhadap besarnya zona hambat